第 41 卷 第 3 期
1998 年 8 月

昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA

Vol. 41, No. 3
Aug., 1998

小地老虎雄蛾中胚层生殖腺缢缩瓣膜结构和功能*

陈长琨　李国清　王荫长　　　胡　冰
（南京农业大学农业昆虫研究所，南京　210095）　（南京农业大学电镜室，南京　210095）

摘要　该文通过光镜、电镜和生化分析等方法，详细观察了小地老虎雄蛾中胚层生殖腺缢缩的形态、数目、位置和细胞特化的瓣膜结构，并研究了缢缩的瓣膜结构和隔离中胚层生殖腺分泌物的功能。结果表明：缢缩是雄蛾中胚层生殖腺上显著收缩段，有 7 个，分别在雄性附腺-贮精囊、贮精囊-精包腺 1 段、精包腺 1～5 各段之间，精包腺 5 段-C 形管；缢缩自内向外分为 4 层，即瓣膜细胞、底膜、肌肉和围膜，肌肉层发达；缢缩瓣膜结构是细胞极度伸长特化形成的，其特点是：多数细胞伸长超过原长度的一倍以上，顶区膨大呈蘑菇突，纵横交错堵塞管腔，其顶段的微绒毛致密而细长，稠密的粗面内质网和稀疏的高尔基体环绕在核的四周，细胞间隙发达；缢缩瓣膜结构具有隔离相邻区段中胚层生殖腺分泌物的功能，致使各区段分泌物在蛋白质电泳谱带数和迁移率，以及经 PAS 染色后在腺腔横切面上的构象存在显著差异。

关键词　小地老虎，中胚层生殖腺，缢缩瓣膜，超微结构

缢缩 (constriction) 是鳞翅目雄蛾中胚层生殖腺显著收缩段。在粘虫 *Mythimna separata*、弄蝶 *Calpodex ethlius*、粉螟 *Anagasta kuehniella* 等鳞翅目昆虫中已有报道[1~4]。在这些研究中，多数学者报道了缢缩的数量、位置，将其作为划分鳞翅目昆虫雄蛾中胚层生殖腺的解剖学依据，有些作者也观察了它的组织层次和结构特点，但这些均缺少对缢缩部位的细胞和亚细胞结构以及生殖生理功能的报道。本文通过光镜、电镜和生化分析等方法，详细观察了夜蛾科小地老虎缢缩的形态、数目、位置和细胞特化的瓣膜结构特点，并研究了它隔离中胚层生殖腺各区段分泌物的功能。

1　材料与方法

1.1　光镜和电镜观察

取 4 日龄未交配的小地老虎雄蛾（室内人工饲养），解剖观察并计数雄蛾中胚层生殖腺上缢缩的数目和位置，然后取出中胚层生殖腺，用 Carnoy 氏固定液固定半小时，在不同浓度酒精中逐级脱水，二甲苯透明，石蜡包埋，连续切片厚度为 5～7 μm，苏木精-伊红和 PAS 染色，封片后光镜观察。

电镜观察的缢缩瓣膜细胞，用 2%戊二醛及 1%锇酸双固定，Epon-812 包埋，超薄切

* 国家自然科学基金资助项目
1996-10-03 收稿，1997-05-06 收修改稿

片厚度 60 nm，醋酸铀和柠檬酸铅染色。于 JEM-100cx Ⅱ 型电镜下观察并拍照。

1.2 蛋白质电泳分离

在生理盐水中取出 4 日龄雄蛾缢缩隔离的中胚层腺各区段，加入 0.2 mL 20%蔗糖，匀浆，在 15 000 r/min 的速度下离心 30 min，取上清液备用。电泳分离胶浓度为 7.5%，Tris 盐酸缓冲液（pH 8.9）；浓缩胶浓度为 2.5%，Tris-盐酸盐缓冲液（pH 6.7），电极缓冲液为 Tris-甘氨酸系统（pH 8.3）。电泳开始时用 30 mA 稳流，进入分离胶后电流提高至 50 mA，胶片用考马氏亮蓝染色。

1.3 微绒毛数量的计算

设缢缩瓣膜细胞顶部磨菇突为半球形，取其纵剖面，测量微绒毛着生处（即细胞顶膜突出处）的半球直径平均数，按公式 $S=2\pi R^2$ 计算半球表面积，再随机取样计算磨菇突上的微毛数（根/μm^2），两者乘积即为缢缩细胞磨菇突上的微绒毛数。

2 结果与分析

2.1 缢缩的数目和位置

缢缩是小地老虎雄蛾中胚层生殖腺上显著收缩段，解剖观察并计数了缢缩的数目和位置。小地老虎雄蛾有 7 个缢缩，分别位于雄性附腺-贮精囊、贮精囊-精包腺 1 段，精包腺 1～5 各段之间，精包腺 5 段-C 形管之间（图 1），缢缩是鳞翅目雄成虫中胚层生殖腺分段和命名的重要形态学依据。

2.2 缢缩瓣膜结构特点

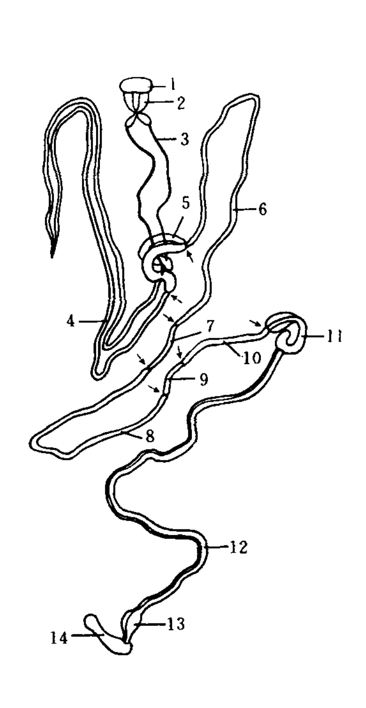
小地老虎雄蛾中胚层生殖腺 7 个缢缩的横切面，尽管其蘑菇状内突的长度和肌肉层厚度在形态上略有差别，但有相同的组织层次和细胞结构，自内向外分为 4 层，即瓣膜细胞层、底膜、肌肉层和围膜，肌肉层比缢缩两端的发达。

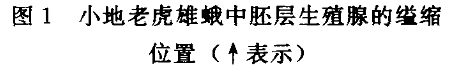
缩缩的瓣膜结构是细胞顶区极度伸长后特化形成的，其特点是（图 2）：多数细胞伸长超过原长度的 1 倍以上，顶区膨大呈蘑菇状内突，纵横交错堵塞内腔（图版Ⅰ：1）；细胞顶膜有二种微绒毛，蘑菇突微绒毛致密而细长，经计算蘑菇突平均直径为 6.2 μm，表面积 60.7 μm^2，每平方微米平均着生的微绒毛 1.72×10^3 根，每个蘑菇突的微绒毛总数至少有 1.05×10^5 根，非突起顶膜的微绒毛粗短而稀疏，呈指状，直径是前者的 2～3 倍，微绒毛基部集聚较多的圆形或椭圆形的线粒体；细胞核的四周有致密的粗面内质网和稀疏的高尔基体，细胞间隙极发达（图版Ⅰ：2～5）。缢缩瓣膜细胞结构特点表明，蘑菇状内突能有效地堵塞管腔，隔离中胚层生殖腺各段的分泌物，避免彼此混和。

2.3 缢缩瓣膜隔离分泌物的作用

2.3.1 缢缩瓣膜分隔的相邻区段分泌物的蛋白电泳谱带差异：以缢缩为分界线，分别取交配前期中胚层生殖腺各区段分泌物，进行蛋白质电泳，结果表明，贮精囊、雄性附腺基部、精包腺 1～5 段腺体分泌物各区段的蛋白质谱带数及迁移率存在明显差异（图 3）：附腺基部谱带数为 17 条，贮精囊为 14 条，精包腺 1～5 段分别为 13、8、7、13 和 7 条，相邻区段之间不仅谱带数不同，迁移率也存在差异。

2.3.2 缢缩瓣膜分隔的相邻区段分泌物在腺腔横切面上的构象差别：交配前期中胚层生




图1　小地老虎雄蛾中胚层生殖腺的缢缩位置（↑表示）

1. 精巢；2. 修精囊；3. 输精管；4. 附腺；5. 贮精囊；6～10. 精包腺1～5段；11. C形管；12. 铸颈管；13. 射精管球；14. 阳茎



图2　小地老虎缢缩瓣膜细胞结构模式图

↑蘑菇突；BM. 底膜；ER. 内质网；L. 管腔；M. 线粒体；MV. 微绒毛；N. 细胞核；*顶膜指状突

殖腺系列切片，经PAS染色后观察到，缢缩瓣膜分隔的相邻两区段腺腔内分泌物，在腺腔横切面上的构象存在极显著差异（表1），如缢缩前的雄性附腺基部PAS阳性和阴性分泌物呈放射状排列，缢缩后贮精囊分泌物则为PAS阳性呈均质分布，又如缢缩前精包腺4段腔内PAS阳性和阴性分泌物呈同心轮纹状排列，而其后的精包腺5段腔内PAS阳性分泌物呈均质分布，这种差异同样存在于缢缩分隔的中胚层生殖腺其余相邻各区段之间。这表明缢缩对相邻二区段分泌物有隔离作用（图版Ⅰ：6～10）。

表1　小地老虎雄蛾中胚层生殖腺各区段分泌物在腺腔横切面的构象

区段名称	分泌物色泽	构象
附腺基段	粉红	PAS阳性和阴性分泌物呈放射状排列
贮精囊	乳白	PAS强阳性分泌物均质分布
精包腺1段	乳白	PAS阳性和阴性分泌物呈放射状排列
精包腺2段	乳白	PAS阳性物呈均质分布
精包腺3段	乳白	PAS阳性物呈均质分布
精包腺4段	乳白	PAS阳性和阴性混和物呈同心轮纹状排列
精包腺5段	黄绿	PAS阳性物呈均质分布

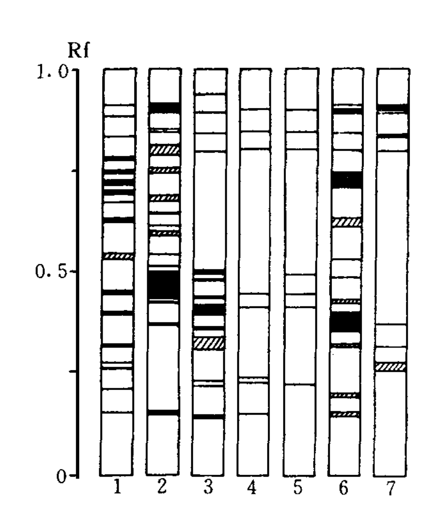


图 3 小地老虎雄蛾交配前中胚层生殖腺各区段分泌物的电泳图谱

1. 附腺基段；2. 修精囊；3～7. 精包腺1～5段；Rf. 迁移率

3 讨论

雄蛾中胚层生殖腺缢缩细胞特化的瓣膜结构赋予它隔离分泌物的功能。从细胞学剖析，缢缩的瓣膜结构执行隔离分泌物功能的主体亚细胞结构是细胞顶区特化的蘑菇状突起，表面有数以万计的微绒毛，微绒毛基部有密集的线粒体，能为其堵塞管腔提供物质和能量，缢缩瓣膜细胞还有一些辅助特化结构，将有助于执行它的功能，如细胞内致密的粗面内质网能合成分泌物，对微绒毛的运动有润滑作用，发达的细胞间隙提供缢缩收缩和扩张的缓冲空间。

缢缩瓣膜结构是鳞翅目昆虫形成精包和繁衍后代的生殖生理需要。雄蛾中胚层生殖腺的分泌物是形成精包和精液的重要成分，前人在观察精包形成时，已详细报道了雄蛾中胚层生殖腺能有顺序、脉冲式向外排放分泌物，分别形成精包颈和精包体各层次，在精包形成后再注入精液[4~6]。本文从缢缩具有发达的肌肉鞘、特化的细胞瓣膜结构和它对相邻区段分泌物的隔离作用推断：在交配前期和间期，雄蛾缢缩的发达肌肉层给与此狭窄区段静态时的收缩力，致使瓣膜结构能有效地堵塞管腔，隔离各区段的分泌物；而在雌雄蛾交配形成精包时，由于雄蛾中胚层生殖腺的肌肉收缩，使管道变短，导致管内分泌物的液体压力增加，冲开缢缩的瓣膜阻碍，而向外排放。可见，缢缩的瓣膜结构在精包形成的过程中，具有极其重要的作用。

参 考 文 献

1 Shepherd J G. Activation of saturniid moth sperm by a secretory of the male reproductive tract. J. Insect physiology, 1974, 20: 2 107～2 122

2 Lai-fook J. Structure function and possible evolutionary significance of constrictions in the male reproductive system of *Calpodes ethlius*. Can. J. Zool., 1982, 60 (8): 1 828～1 836

3 Reimann J G, Thorson B T. Ultrastructure of the ductus ejculatorius duplex of the maditerrannean flour moth *Anagasta kuekniella*. Int. J. Insect Morphol. Embryol., 1976, 5: 227～240

4 赵万源. 粘虫精液在雌体生殖系统中的分布转移及其作用. 昆虫学报，1981，135～141

5 弁吉元，孙少轩. 粘虫精珠受精的研究. 昆虫学报，1980，23 (1): 16～23

6 周祖琳. 麦蛾交配过程中精包的形成. 昆虫学报，1989，32 (4): 501～502

VALVULAR STRUCTURE AND FUNCTION OF CONSTRICTIONS OF MESODERMAL GLANDS OF MALE ADULT REPRODUCTIVE TRACT IN BLACK CUTWORM, *AGROTIS YPSILON*

Chen Changkun Li Guoqing Wang Yinchang
(Institute of Agricultural Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)
Hu Bing
(Electronmicroscope Laboratory, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract Valvular structure and function of mesodermal glands of male reproductive tract in the black cutworm, *Agrotis ypsilon*, were studied with light and electron microscopies. The results were summarized as follows:

(1) Distinct constrictions occur between and within the various parts of mesodermal glands of the male reproductive tract. There were seven constrictions located between male accessory gland-seminal vesicle, seminal vesicle-1st segment of spermatophore gland, 1-2, 2-3, 3-4, 4-5 segments of spermatophore gland, and 5th segment of spermatophore gland-c tubule.

(2) The histological structure of constriction consisted of four successive layers: valvular cells, basal lamella, muscle nad peritomeal membrane.

(3) The valvular structure characteristics of constriction cell were as follows: apical region lengthened and expanded into mushroom-like convex projection which possessed a lot of long and thin microvilli blocking the tubule lumen, the nucleus surrounded densely by rough endopalsmic reticula and some Golgi complexes, with large intercellular spaces.

(4) The results of polyacrylamide-gel-electrophoresis of the secretions of the segments of spermatophore gland divided by constrictions showed that the electrophoresis patterns were quite different. The results of the PAS reaction also showed that the forms of those serections were different in cross section of lummen. Therefore, the valvular structure of constriction is considered to be an important part in separating secretion of mesodermal glands of male reproductive tract.

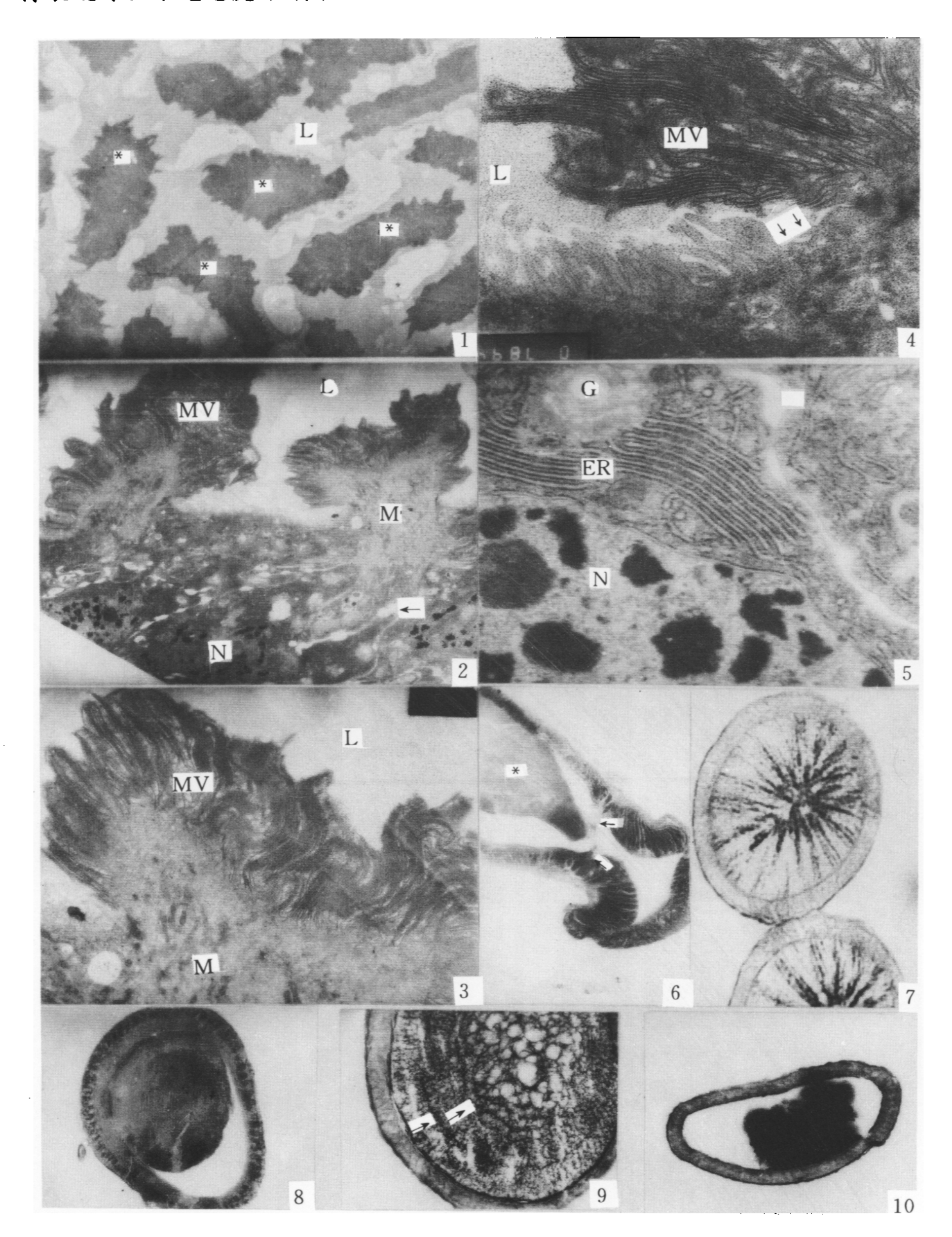
Key words *Agrotis ypsilon*, male mesodermal glands, constriction, valvular structure

图 版 说 明

图 版 I

小地老虎雄蛾中胚层生殖腺缢缩瓣膜结构和功能

1. 缢缩横剖面，示蘑菇状突起（*）堵塞管腔（L），突起四周为分泌物浸润（1 500×）；
2. 缢缩瓣膜细胞纵切面，示蘑菇突致密的微绒毛（MV）和线粒体（M），发达的细胞间隙（↑）（2 500×）；
3. 图片 2 放大，示蘑菇突上致密的微绒毛（MV），及基部的线粒体（M）（10 000×）；
4. 图片 2 放大，顶膜和蘑菇突交界处（↑↑），顶膜的微绒毛粗短，被含有微粒的分泌物浸润（19 000×）；
5. 图片 2 放大，示核周平行排列的粗面内质网（ER）和分散的高尔基体（G），发达的细胞间隙（↑）（25 000×）；
6. 贮精囊和精包腺 1 段缢缩的纵切面，示瓣膜突起（↑）及被隔离的贮精囊内分泌物（*）（300×）；
7. 雄性附腺的横切面，示分泌物呈放射状排列（450×）；
8. 贮精囊内分泌物呈均质分布（330×）；
9. 精包腺 4 段分泌物呈同心轮纹状排列（↑）（350×）；
10. 精包腺 5 段，示分泌物均质分布（300×）


L
*
*
*
*
*
1
MV
L
4
L
MV
M
N
2
G
ER
N
5
L
MV
M
3
*
6
7
8
9
10